

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 455 060

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 79 10193

(54) Dérivés de la gélatine à pouvoir gélifiant réduit ou nul et leur procédé de préparation.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). C 08 H 1/00; A 23 J 1/10, 3/00; A 61 K 7/00, 37/12;
G 03 C 1/00.

(22) Date de dépôt..... 23 avril 1979, à 15 h 7 mn.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 47 du 21-11-1980.

(71) Déposant : ROUSSELOT SA, société anonyme, résidant en France.

(72) Invention de : Christian Jacques Menou, Georges Takerkart et Michel Vedrines.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Office Blétry,
2, bd de Strasbourg, 75010 Paris.

La présente invention a pour objet des dérivés de la gélatine à pouvoir gélifiant réduit ou nul.

Un autre objet de l'invention est un procédé de préparation de ces dérivés de gélatine.

5 La gélatine est une protéine dérivant du collagène. Sa masse moléculaire moyenne en nombre est susceptible de très fortes variations. Elle est généralement comprise entre 10.000 et 100.000.

10 Sa composition en acides aminés varie peu selon son origine. Elle comprend, comme toutes les protéines, des acides aminés présentant dans les chaînes latérales des groupes réactifs :

- groupes hydroxyle (1,5 - 2 méq/g)
 - groupes carboxyle (1,0 - 1,5 méq/g)
 - 15 - groupes guanidyle (0,5 méq/g)
 - groupes aminé (0,35 - 0,45 méq/g),
- l'abréviation méq signifiant milliéquivalent.

De tous ces groupes, les hydroxyles sont les plus nombreux (provenant en particulier de l'hydroxyproline).

- 20 La réaction des anhydrides et des chlorures d'acides organiques sur la gélatine est bien connue. Elle est utilisée :
- pour supprimer la faculté de tannage par les aldéhydes (brevet US - 2.525.753)
 - pour modifier la solubilité dans l'eau des gélatines et
 - 25 permettre leur floculation en milieu acide (brevet US 2.614.928 du 21.10.52 aux noms de YUTZY et al.)
 - pour abaisser le point isoélectrique des gélatines (brevet US 2.827.419 du 18.3.58 aux noms de TOURTELLOTTE et al.)

30 Elle a fait l'objet de nombreuses études qui ont montré qu'en milieu aqueux ou hydro-organique, et dans les conditions décrites jusqu'alors, la réaction s'effectuait essentiellement sur les groupes amine. Hormis les modifications signalées précédemment, les propriétés de la gélatine

35 sont peu affectées, notamment la force en gelée et la viscosité (Ward et Courts - The Science and Technology of Gelatin - Academic Press. 1977 - p. 185 et p. 213 à 223). Il n'existe dans la littérature aucune mention d'une réaction importante de

ces réactifs en milieu aqueux sur les groupes hydroxyle de la gélatine.

Seule la réaction de l'anhydride acétique en milieu anhydre (acide acétique ou acide trifluoroacétique) sur les groupes hydroxyle de la gélatine a été décrite (Kenchington - Biochem. J. - 1957, 68, (3) p. 458 - 68 et Bello et al. - Biochim. Biophys. acta - 1962, 57 p. 222 - 29). Cette réaction s'accompagne d'autres modifications de la structure de la protéine (insolubilisation ou dégradation). Il s'agit, de plus, de conditions opératoires difficilement transposables à l'échelle industrielle.

La gélatine est généralement utilisée pour son pouvoir gélifiant. Toutefois, pour certaines applications faisant appel aux autres propriétés de la gélatine (viscosité, pouvoir de colloïde protecteur, pouvoir filmogène, pouvoir absorbant etc.), la gélification peut être indésirable. Pour limiter ou supprimer celle-ci, la dégradation des chaînes protéiques avec abaissement des masses moléculaires est utilisée. C'est notamment le cas de certaines applications pharmaceutiques et alimentaires (par exemple préparation de substituts du plasma sanguin et de gélifiants alimentaires solubles à froid).

Seuls des travaux récents sur l'acétylation en milieu trifluoroacétique (Weber et al. - Helv. Chim. acta - 1978, 61 (2) p. 701 - 708) ont mis en évidence la possibilité d'une réduction du pouvoir gélifiant des gélatines par estérification partielle des groupes hydroxyle, mais avec les inconvénients propres à cette méthode (découlant de l'emploi d'un milieu agressif trifluoroacétique) et sans que l'on soit parvenu à une maîtrise du phénomène ni à une suppression complète de la gélification.

Il n'existe de ce fait, à ce jour, aucun procédé permettant d'abaisser ou de supprimer le pouvoir gélifiant des gélatines, tout en maîtrisant les phénomènes annexes, notamment la réduction de la masse moléculaire par dégradation. En particulier, aucune gélatine à pouvoir gélifiant nul et de haute masse moléculaire ($\overline{Mn} > 36.000$) n'a été obtenue, \overline{Mn} désignant la masse moléculaire moyenne en nombre. Or, il peut être intéressant pour certaines applications (substituts du plasma

sanguin par exemple) que la masse moléculaire demeure élevée.

Les buts de la présente invention sont les suivants :

- Obtenir des dérivés de gélatine à pouvoir gélifiant abaissé ou nul permettant leur utilisation chaque fois que la gélification est indésirable.
- Obtenir, en particulier, de tels dérivés de gélatine non dégradés, ayant une répartition moléculaire non modifiée, pouvant comporter certaines structures moléculaires du collagène (chaînes α , β , γ).
- Mettre au point un procédé utilisable industriellement pour préparer de tels dérivés de gélatine.

Un premier objet de l'invention est donc des dérivés de gélatine à pouvoir gélifiant réduit ou nul, caractérisés en ce que 25 % à 100 % de leurs groupes hydroxyle sont sous une forme substituée, notamment sous une forme estérifiée. Ces dérivés de la gélatine peuvent être non dégradés.

Un second objet de l'invention est un procédé de préparation de tels dérivés de gélatine, dont les groupes hydroxyle sont sous une forme estérifiée, suivant lequel on fait réagir la gélatine en milieu aqueux avec un agent de substitution des groupes amine de celle-ci, caractérisé en ce que l'on fait réagir complémentaiement la gélatine en milieu aqueux avec des anhydrides ou des chlorures d'acides organiques introduits en une quantité telle que 25 % à 100 % des groupes hydroxyle disponibles soient estérifiés.

Avec ce procédé, on peut obtenir, par exemple, un dérivé de gélatine non dégradé, tel que défini précédemment, qui, par estérification totale des groupes hydroxyle de la gélatine, ne donne plus de gel à 0°C et à des concentrations dans l'eau pouvant atteindre 15 % en poids ou plus, ou encore obtenir des dérivés de gélatine non dégradés, qui, par estérification partielle (à 80 % - 90 % par exemple) des groupes hydroxyle de la gélatine, ne donnent pas de gel en solution aqueuse à 4 % en poids et à 0°C, ces derniers dérivés étant susceptibles d'être utilisés dans les formules de substitut du plasma sanguin.

La viscosité de ces dérivés de gélatine à pouvoir gélifiant réduit ou nul peut être identique à celle de la gélatine de départ ou être fortement augmentée, lorsque

l'agent d'estérification des groupes hydroxyle est un anhydride de polyacide.

5 Leur caractère acide peut aussi être fortement augmenté, du fait du remplacement partiel ou total des groupes hydroxyle par des groupes carboxyle, lorsqu'on emploie comme réactif un anhydride de polyacide ; dans ce cas, le nombre des groupes carboxyle peut être au moins doublé.

10 La substitution initiale des groupes amine de la gélatine peut être totale ou partielle, et elle peut être une opération séparée ou être effectuée en une seule étape avec l'estérification des groupes hydroxyle.

15 On contrôle la réaction en modifiant les quantités de réactifs utilisés ou les conditions opératoires, de manière à ajuster le taux d'estérification des groupes hydroxyle, l'estérification pouvant être totale.

Il a été découvert, suivant la présente invention, que le pouvoir gélifiant des gélatines est proportionnel au nombre de leurs groupes hydroxyle libres et qu'il est donc possible de l'ajuster ou de l'annuler à volonté avec le présent procédé.

20 En choisissant convenablement les réactifs utilisés et les conditions opératoires, les réactions de substitution des groupes amine et d'estérification des groupes hydroxyle peuvent être effectuées sans modification de la répartition moléculaire ni dégradation de la gélatine initiale.

25 La gélatine utilisée pour la préparation de ces dérivés peut être issue de diverses matières premières : os, peaux et tout produit collagénique. Le procédé utilisé pour son obtention peut être alcalin, acide, alcalino-acide, enzymatique ou tout autre procédé. Sa masse moléculaire moyenne en nombre est comprise de préférence entre environ 40.000 et environ 100.000.

30 Les anhydrides d'acides utilisés peuvent être :

- l'anhydride acétique
- l'anhydride 1,2-benzènetricarboxylique-1,2,4 (anhydride trimellitique)
- 35 - l'anhydride benzoïque
- l'anhydride butyrique
- l'anhydride cyclohexanedicarboxylique-1,2
- l'anhydride glutarique
- l'anhydride isatoïque

- l'anhydride maléique
- l'anhydride phtalique
- l'anhydride itaconique
- l'anhydride citraconique
- 5 - l'anhydride aconitique
- l'anhydride propionique
- l'anhydride succinique
- l'anhydride isovalérique

et tout autre anhydride d'acide carboxylique.

10 Les chlorures d'acides utilisés peuvent être :

- le chlorure d'acétyle
- le chlorure de benzoyle
- le chlorure de propionyle
- le chlorure de furoyle

15 et tout autre chlorure d'acide carboxylique.

La réaction est conduite dans l'eau ou dans un mélange d'eau et d'un solvant organique miscible à l'eau, tel que l'acétone ou le dioxanne.

20 La concentration en gélatine de la solution mise en oeuvre peut être de 1 % à 40 % en poids et de préférence de 5 à 20 % en poids selon les caractéristiques de la gélatine utilisée. La température de réaction peut être comprise entre 30°C et 80°C et de préférence entre 40°C et 60°C pour éviter les dégradations.

25 Le pH doit être maintenu au cours de la réaction entre 4 et 11 et de préférence entre 5,5 et 10. Il dépend des réactifs dérivés d'acides utilisés et il est choisi pour éviter la coagulation en cours de réaction. On emploie pour ajuster le pH une solution aqueuse d'une substance basique, telle que
30 hydroxyde de sodium, hydroxyde de potassium, hydroxyde d'ammonium, carbonate de sodium, et similaire.

La durée de réaction peut être comprise entre 5 mn et 240 mn, selon le réactif utilisé et le mode d'addition de ce dernier.

35 Le réactif dérivé d'acide peut être versé dans le milieu réactionnel, soit tel quel, soit dissous dans un solvant anhydre tel que l'acétone. Il peut être ajouté en une seule fois ou par fractions, ou en continu.

Lorsqu'il est un anhydride de polyacide, le dérivé de gélatine obtenu est sans dégradation par rapport à la gélatine initiale.

La réaction sur les groupes hydroxyle nécessitant une substitution préalable des groupes amine de la gélatine, elle doit :

- soit être conduite sur un dérivé de gélatine ayant ses groupes amine substitués dans un premier temps par tout procédé connu (par des anhydrides ou chlorures d'acides organiques, des isocyanates etc.. ; voir les brevets précités US 2.525.753 et 2.614.928)
- soit être conduite en une seule opération englobant la substitution successive des groupes amine et des groupes hydroxyle, au moyen d'une proportion suffisante du réactif anhydride ou chlorure d'acide. Cette proportion doit être alors d'au moins 20 % en poids par rapport à la gélatine.

La quantité d'anhydride ou de chlorure d'acide utilisée pour l'estérification des groupes hydroxyle peut être comprise entre 10 % et 500 % en poids par rapport à la gélatine. Elle dépend du réactif utilisé et du nombre de groupes hydroxyle que l'on désire estérifier. Elle doit être supérieure dans chaque cas à la quantité stoechiométrique.

Lorsque l'on recherche une estérification importante des groupements hydroxyle, la réaction peut être conduite en plusieurs étapes successives, avec élimination intermédiaire des sous-produits de la réaction. A chaque étape, l'anhydride ou le chlorure d'acide peut être différent.

En fin de réaction, ou à la fin de chaque étape de réaction, l'élimination des sous-produits de la réaction peut être effectuée en opérant :

- soit une déminéralisation du milieu réactionnel au moyen de résines échangeuses d'ions,
- soit une ultrafiltration ou une diafiltration de ce même milieu réactionnel,
- soit un lavage du coagulum, qui est obtenu par abaissement du pH du milieu réactionnel entraînant une floculation du produit de la réaction.

On donne ci-après quelques exemples des réactions effectuées suivant l'invention et des produits obtenus.

Tous les pourcentages indiqués sont en poids et les quantités et proportions de gélatine concernent toujours la gélatine sèche, comme on l'entend commercialement.

La valeur exprimée en blooms représente la force en gelée déterminée selon la méthode "British Standard for sampling and testing gelatines" B.S. 757 : 1975.

5 La valeur exprimée en mp (millipoise) représente la viscosité déterminée selon la même méthode.

La valeur exprimée en mM/g (millimoles du réactif dérivé d'acide par gramme de gélatine sèche) représente la quantité totale fixée du réactif.

10 Les valeurs de masses moléculaires indiquées (\overline{Mn}) correspondent aux masses moléculaires moyennes en nombre.

La T_D (température de dénaturation, qui est la température de transition gel-sol observée en polarimétrie) est exprimée en degrés Celsius.

Exemple 1 (Réaction préalable isolée de substitution des groupes amine)

15 On fait gonfler pendant une heure 500 g de gélatine /gélatine d'os de point isoélectrique (P.I.) 4,8/ dans 3,7 litres d'eau distillée ; on la fait fondre à 50°C. Lorsque la gélatine est fondue , on ajuste le pH à 8,5 avec de la soude 2N, puis on ajoute à la solution de gélatine à 50°C sous agitation
20 en dix minutes 50 g d'isocyanate de phényle (qui ne réagit pas avec les groupes hydroxyle) dissous dans 200 ml d'acétone. Pendant l'addition de la solution acétonique d'isocyanate de phényle, le pH est maintenu entre 7,5 et 8,5 par addition de soude 2N. L'addition terminée, le pH est maintenu à 8,5
25 pendant encore 5 minutes par de la soude 2N, puis on ramène le pH à 7,0 avec de l'acide sulfurique 2N.

La solution est filtrée et déminéralisée sur résines échangeuses d'ions.

30 Après déminéralisation, le pH de la solution est ajusté à 6,0 avec de la soude 2N, et la solution est concentrée sous vide jusqu'à une concentration en gélatine de 10 %. On porte la solution à 50°C, on ajuste le pH à 8,5, et, sous agitation, on ajoute en vingt minutes 400 ml d'acétone contenant 50 g d'anhydride phtalique. On maintient le pH à 8,5 pendant
35 l'addition de la solution acétonique d'anhydride et encore pendant 5 minutes après la fin de l'addition. Le pH est amené à 6,0, la solution est diafiltrée, concentrée et séchée.

	blooms	Viscosité mp	mm/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	Mn	T _D
5	gélatine de départ	274	57,2	-	-	78000	20,9°C
	gélatine à groupes amine substitués	286	55	0,36	100	79000	22,8°C
	dérivé de gélatine final	183	59,2	0,75	100	80000	18,3°C

10 Exemple 2

A 2,5 litres d'une solution aqueuse de gélatine (gélatine de peau de cochon de P.I. 9,0) à 10 % et à 60°C, dont le pH est ajusté à 6,5 par de la soude 2N, on ajoute en quinze minutes et sous agitation un litre d'acétone contenant 125 g d'anhydride phtalique en maintenant le pH à 6,5 par addition de soude.

L'addition terminée, on maintient le pH à 6,5 pendant encore cinq minutes. La solution de gélatine est diafiltrée, concentrée et séchée.

	blooms	Viscosité mp	mm/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	Mn	T _D
20	gélatine de départ	269	51	-	-	82000	21,0°C
	dérivé de gélatine	pas de gel	150	1,37	55,5	94000	19,5°C

25

Exemple 3

A un litre d'une solution aqueuse de gélatine (gélatine d'os de P.I. 4,8) à 10 % et à 50°C, dont le pH est ajusté à 8,5 par de la soude 2N, on ajoute en quinze minutes et sous agitation un litre d'acétone contenant 100 g d'anhydride phtalique en maintenant le pH entre 7,5 et 8,5 par addition de soude 2N.

L'addition terminée, on maintient le pH à 8,5 pendant cinq minutes, puis on dilue la solution par deux litres d'eau distillée froide.

35 Le pH de la solution est ensuite amené lentement à 4,0 sous agitation et par addition d'acide nitrique 2N. A pH 4,0, le dérivé de gélatine coagule, on élimine le liquide surnageant et on lave le coagulum à l'eau distillée. Il est ensuite mis

en suspension dans de l'eau et dissous par chauffage à 50°C et ajustement du pH à 6,0. La solution obtenue est concentrée et séchée.

5

	blooms	Viscosité mp	mm/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	Mn	T _D
gélatine de départ	261	49,5	-	-	-	76000	20,7°C
dérivé de gélatine	pas de gel	81,0	1,65	36,1	96,8	82000	6,0°C

10

Ce dérivé de gélatine ne prend pas en gel en solution aqueuse à 10 %, après maintien 24 heures à 0°C.

Exemple 4

15

A un litre d'une solution aqueuse de gélatine (gélatine d'os obtenue par un procédé acide, de P.I. 8,0) à 30 % et à 65°C, dont le pH est ajusté à 9,5 par de la soude 2N, on ajoute en 15 mn et sous agitation un litre d'acétone contenant 300 g d'anhydride phtalique, en maintenant le pH entre 9,0 et 10,0 par addition de soude 2N.

20

L'addition terminée, on maintient le pH à 9,5 pendant cinq minutes, puis on dilue la solution par deux litres d'eau distillée froide.

Le dérivé de gélatine obtenu est alors floculé, purifié et isolé selon les conditions de l'exemple 3.

25

	blooms	Viscosité mp	mm/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	Mn	T _D
gélatine de départ	94	16	-	-	-	35000	17,5°C
dérivé de gélatine	pas de gel	30	1,60	40,0	95	37000	6,0°C

30

Exemple 5

Le dérivé de gélatine préparé dans l'exemple 3 est traité comme suit.

35

On fait gonfler pendant une heure 25 g de ce dérivé de gélatine dans 225 ml d'eau distillée, on le fait fondre à 50°C, le pH de la solution est ajusté à 8,5 avec de la soude 2N, puis on ajoute en quinze minutes et sous agitation une solution contenant 25 g d'anhydride phtalique dissous dans 220 ml d'acétone.

Pendant l'addition de la solution acétonique d'anhydride phtalique, le pH est maintenu entre 7,5 et 8,5 par addition de soude 2N.

Le pH est maintenu à 8,5 par addition de soude 2N cinq minutes après la fin de l'addition de la solution acétonique d'anhydride phtalique, puis on amène le pH à 6,0 par addition d'acide nitrique 2N.

La solution est ensuite diafiltrée, concentrée et lyophilisée.

	blooms	Viscosité mp	mM/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	\overline{Mn}	T _D
gélatine de départ	pas de gel	81,0	1,65	36,1	96,8	82000	6°C
dérivé de gélatine	"	94,0	1,76	44,4	100,0	82000	-

Ce dérivé de gélatine ne donne plus de phénomène de prise en gel à 0°C même à une concentration de 15 % dans l'eau.

Exemple 6

A 5 litres d'une solution aqueuse de gélatine (gélatine d'os de P.I.4,9) à 10 % et 40°C, dont le pH est ajusté à 8,5 par de la soude 2N, on ajoute en quinze minutes et sous agitation 2 litres d'acétone contenant 350 g d'anhydride succinique en maintenant le pH entre 7,5 et 9 par addition de soude 2N.

L'addition terminée, on maintient le pH à 8,5 pendant encore cinq minutes puis on ajuste le pH à 6,0 avec de l'acide nitrique 2N. La solution est ensuite diafiltrée, concentrée, séchée.

	blooms	Viscosité mp	mM/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	\overline{Mn}	T _D
gélatine de départ	261	49,5	-	-	-	76000	20,7°C
dérivé de gélatine	29	101,0	1,23	94,4	57,6	82000	13,3°C

Exemple 7

Identique à l'exemple 6, mais on maintient la température à 50°C et l'on ajoute 4 litres d'acétone contenant 1000 g d'anhydride succinique.

	blooms	Viscosité mp	mM/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	M _n	T _D
gélatine de départ	261	49,5	-	-	-	76000	20,7°C
dérivé de gélatine	pas de gel	105	1,65	100 %	86,0	83000	10,0°C

Ce dérivé de gélatine ne donne pas de gel en solution aqueuse à 4 % après 24 heures à 0°C.

Exemple 8

Identique à l'exemple 7, mais on remplace la gélatine d'os par une gélatine de peau de P.I.4,8.

	blooms	Viscosité mp	mM/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	M _n	T _D
gélatine de départ	153	49	-	-	-	60000	18°C
dérivé de gélatine	pas de gel	80	1,18	95	55	65000	12°C

Exemple 9

A 5 litres d'une solution aqueuse de gélatine (gélatine d'os de P.I.4,9) à 10 % et à 50°C, dont le pH est ajusté à 8,5 par de la soude 2N, on ajoute en une heure 2 litres d'acétone contenant 750 g d'anhydride benzoïque.

Le pH est maintenu à 8,5 par de la soude 2N pendant l'addition de la solution acétonique d'anhydride benzoïque.

L'addition terminée, on ajuste le pH à 6,0 avec de l'acide nitrique 2N. La solution est diafiltrée, concentrée et séchée.

	blooms	Viscosité mp	mM/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	M _n	T _D
gélatine de départ	274	57,2	-	-	-	78000	20,9°C
dérivé de gélatine	pas de gel	10,0	1,77	100 %	100 %	30000	-

Ce dérivé de gélatine ne donne pas de phénomène de prise en gel.

Exemple 10

A 5 litres d'une solution aqueuse de gélatine à 20 % (gélatine d'os de P.I.4,9) et à 50°C, dont le pH est ajusté à 8,5 avec de la soude 2N, on ajoute 2,5 litres d'acétone.

On ajoute ensuite 500 g d'anhydride acétique en vingt minutes, n maintenant le pH à 8,5 par addition de soude 2N.

L'addition terminée, on ajuste le pH à 6,0 avec de l'acide sulfurique. La solution est ensuite diafiltrée, concentrée et séchée.

5		blooms	Viscosité mp	mM/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	Mn	T _D
	gélatine de départ	274	57,2	-	-	-	78000	20,9°C
	dérivé de gélatine	pas de gel	10,0	1,57	100	76,6	430000	-

10 Ce dérivé de gélatine ne donne pas de phénomène de prise en gel.

Exemple 11

On fait gonfler pendant une heure 500 g de gélatine (gélatine d'os de point isoélectrique 4,8) dans 4,5 litres d'eau, puis on la fait fondre à 50°C.

Lorsque la gélatine est fondue, on ajuste le pH à 8,5 avec de la soude 2N.

On ajoute à la solution de gélatine à 50°C sous agitation, en 120 minutes, 150 g d'anhydride phtalique en poudre.

20 Pendant l'addition de l'anhydride phtalique, le pH est maintenu entre 7,5 et 8,5 par addition de soude 2N, jusqu'à dissolution complète de l'anhydride phtalique, puis on ramène le pH à 7,0 avec de l'acide nitrique 2N. La solution de gélatine est ensuite déminéralisée, concentrée et séchée.

25		blooms	Viscosité mp	mM/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	Mn	T _D
	gélatine de départ	261	49,5	-	-	-	76000	20,7°C
	dérivé de gélatine	20	70,0	1,10	77,8	58,9	80000	12,6°C

Exemple 12

30 A 5 litres d'une solution de gélatine (gélatine de P.I. 4,9) à 10 % et à 50°C dont le pH est ajusté à 8,5 par de la soude 2N, on ajoute sous agitation et en 30 minutes 500 g de chlorure de benzoyle dissous dans 2 litres d'acétone anhydre.

Le pH est maintenu à 7,5 - 9,5.

35 L'addition terminée, on amène le pH à 6 avec de l'acide sulfurique 2N.

La solution est ensuite filtrée, diafiltrée, concentrée et séché .

	blooms	Viscosité mp	mM/g fixées	-NH ₂ substitués %	-OH estérifiés %	Mn	T _D
gélatine de départ	261	49,5	-	-	-	76000	20,7°C
dérivé de gélatine	30	17,0	1,14	100,0	50,0	35000	10,0°C

5 Applications des produits

Les produits obtenus par ce procédé peuvent être utilisés chaque fois que le pouvoir gélifiant de la gélatine doit être réduit ou supprimé, notamment :

- pour la préparation de substituts du plasma sanguin, où l'absence de prise en gel à 0°C en solution aqueuse à 4 % en poids est recherchée et où la dégradation faible ou nulle de la molécule de gélatine est un avantage,
- pour la préparation d'additifs alimentaires tels qu'épaississants, hydrolysats de gélatines solubles à froid etc.,
- dans l'industrie photographique.

Les produits obtenus par ce procédé peuvent également être utilisés chaque fois qu'une augmentation très importante du nombre des groupes acides de la gélatine est recherchée (substitut du plasma sanguin par exemple), ou chaque fois qu'une haute viscosité est recherchée, sans qu'un pouvoir gélifiant élevé soit nécessaire (industrie photographique, cosmétologie..)

Les produits obtenus par ce procédé peuvent enfin être utilisés chaque fois que la possibilité d'une floculation par abaissement du pH est recherchée, les caractéristiques de coagulation étant améliorées par rapport aux gélatines existantes, du fait du taux de modification très élevé obtenu et, par suite, du nombre élevé de groupes carboxyle supplémentaires introduits.

Le choix des réactifs mis en oeuvre doit être effectué en fonction des applications recherchées, la progressivité des réactions permettant de régler les caractéristiques des dérivés obtenus au niveau souhaité.

RE V E N D I C A T I O N S

1.- Dérivés de gélatine à pouvoir gélifiant réduit ou nul, caractérisés en ce que 25 % à 100 % de leurs groupes hydroxyle sont sous une forme substituée, notamment sous une forme estérifiée.

5 2.- Dérivés de gélatine suivant la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils sont non dégradés.

3.- Procédé de préparation de dérivés de la gélatine suivant la revendication 1 ou 2, dont les groupes hydroxyle sont sous une forme estérifiée, suivant lequel on fait réagir la gélatine
10 en milieu aqueux avec un agent de substitution des groupes amine de celle-ci, la substitution des groupes amine pouvant être totale ou partielle, caractérisé en ce que l'on fait réagir complémentai-
15 rement la gélatine en milieu aqueux avec des anhydrides ou des chlorures d'acides organiques introduits en une quantité telle que 25 % à 100 % des groupes hydroxyle disponibles soient estérifiés.

4.- Procédé suivant la revendication 3, caractérisé en ce que l'on effectue en deux étapes distinctes la substitution initiale des groupes amine et l'estérification des groupes
20 hydroxyle.

5.- Procédé suivant la revendication 3, caractérisé en ce que l'on effectue en une seule étape la substitution des groupes amine et l'estérification des groupes hydroxyle, la proportion du réactif anhydride ou chlorure d'acide étant alors d'au moins
25 20 % en poids par rapport à la gélatine.

6.- Procédé suivant l'une quelconque des revendications 3 à 5, caractérisé en ce que l'on ajoute au milieu aqueux un solvant organique miscible à l'eau.

7.- Procédé suivant l'une quelconque des revendications
30 3 à 6, caractérisé en ce que la concentration en gélatine de la solution de gélatine mise en oeuvre est de 1 % à 40 % en poids, en ce que la proportion du réactif anhydride ou chlorure d'acide est de 10 % à 500 % en poids par rapport à la gélatine, en ce que la température de réaction est comprise entre 30°C et
35 80°C, en ce que le pH du milieu réactionnel est maintenu entre 4 et 11 pendant la réaction, dont la durée varie entre 5 mn et

4 h, et en ce que l'on élimine les sous-produits de la réaction avant d'isoler le dérivé de gélatine obtenu.

8.- Procédé suivant la revendication 7, caractérisé en ce que la concentration en gélatine de la solution de gélatine mise en oeuvre est de 5 à 20 % en poids, en ce que la température de réaction est comprise entre 40°C et 60°C, et en ce que le pH du milieu réactionnel est maintenu entre 5,5 et 10 pendant la réaction.

9.- Procédé suivant l'une quelconque des revendications 3 à 8, caractérisé en ce que le réactif anhydride d'acide est choisi parmi l'anhydride acétique, l'anhydride 1,2-benzène-tricarboxylique-1,2,4 (anhydride trimellitique), l'anhydride benzoïque, l'anhydride butyrique, l'anhydride cyclohexanedicarboxylique-1,2, l'anhydride glutarique, l'anhydride isatoïque, l'anhydride maléique, l'anhydride phtalique, l'anhydride itaconique, l'anhydride citraconique, l'anhydride aconitique, l'anhydride propionique, l'anhydride succinique, l'anhydride isovalérique et en ce que le réactif chlorure d'acide est choisi parmi le chlorure d'acétyle, le chlorure de benzoyle, le chlorure de propionyle, le chlorure de furoyle.

10.- Procédé suivant l'une quelconque des revendications 3 à 9, caractérisé en ce que l'on effectue la réaction d'estérification des groupes hydroxyle en plusieurs étapes, en éliminant les sous-produits de la réaction après chaque étape.

11.- Procédé suivant la revendication 10, caractérisé en ce que le réactif anhydride ou chlorure d'acide peut être différent à chaque étape.

12.- Procédé suivant l'une quelconque des revendications 3 à 11, caractérisé en ce que la gélatine de départ a une masse moléculaire moyenne en nombre comprise entre 40.000 et 100.000.

13.- Procédé suivant l'une quelconque des revendications 3 à 12, caractérisé en ce que le réactif anhydride d'acide est un anhydride de polyacide, le dérivé de gélatine obtenu avec ce réactif étant non dégradé.

14.- Procédé suivant la revendication 13, caractérisé en ce que l'anhydride de polyacide est choisi parmi l'anhydride phtalique, l'anhydride trimellitique, l'anhydride maléique, l'anhydride succinique, l'anhydride aconitique, l'anhydride itaconique,

l'anhydride citraconique, l'anhydride cyclohexanedicarboxylique-1,2, l'anhydride glutarique, l'anhydride isatoïque.

5 15.- Dérivé de gélatine obtenu par le procédé suivant la revendication 13 ou 14, caractérisé en ce qu'il est non dégradé, sa masse moléculaire moyenne en nombre n'étant pas inférieure à celle de la gélatine initiale, et en ce que le nombre de ses groupes carboxyle est au moins deux fois le nombre des groupes carboxyle de la gélatine initiale.

10 16.- Dérivé de gélatine suivant la revendication 15, caractérisé en ce que sa viscosité est supérieure à celle de la gélatine initiale.

15 17.- Dérivé de gélatine suivant la revendication 15 ou 16, obtenu par le procédé suivant la revendication 12, caractérisé en ce que 80 à 90 % de ses groupes hydroxyle sont sous une forme estérifiée et en ce qu'il ne donne plus de gel en solution aqueuse à 4 % en poids, à 0°C.

20 18.- Dérivé de gélatine suivant la revendication 15 ou 16, obtenu par le procédé suivant la revendication 12, caractérisé en ce que la totalité de ses groupes hydroxyle est sous une forme estérifiée et en ce qu'il ne peut plus former de gel, à 0°C.